

Н.А.Кузьмичева, О.В.Созинов<sup>1</sup>,  
Т.К.Сергутко, О.М.Чернявская

## СОДЕРЖАНИЕ КОНДЕНСИРОВАННЫХ ДУБИЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В КОРНЕВИЩАХ ЛАПЧАТКИ ПРЯМОСТОЯЧЕЙ

Витебский государственный медицинский университет

<sup>1</sup>Гродненский государственный университет им. Я.Купалы

В статье представлены данные о количественном содержании конденсированных и гидролизующихся дубильных веществ в корневищах лапчатки прямостоячей, заготовленных в пяти ценопопуляциях Гродненского района.

### ВВЕДЕНИЕ

Конденсированные дубильные вещества (проантоцианидины) представляют собой олигомеры и полимеры катехинов и лейкоантоцианидинов. Дубящие свойства проявляются уже на уровне тримерных проантоцианидинов и усиливаются с повышением степени конденсации [3].

Лекарственное сырье и препараты, содержащие дубильные вещества, применяют в медицине в качестве вяжущего, кровоостанавливающего, противовоспалительного, антимикробного средства. Для конденсированных дубильных веществ отмечена высокая Р-витаминная, антигипоксическая, противосклеротическая активность; производные катехинов проявляют противоопухолевую активность. Кроме того, дубильные вещества являются антидотами при отравлении тяжелыми металлами и алкалоидами [3].

Все вышесказанное обуславливает интерес к данному классу вторичных соединений, накапливающихся в растениях иногда в очень значительных количествах. Из растений флоры Республики Беларусь, разрешенных к медицинскому применению, своеобразным рекордсменом является лапчатка прямостоячая (*Potentilla erecta* (L.) Raeusch.) семейства розоцветные (*Rosaceae*), в корневищах которой содержится не менее 20% дубильных веществ, преимущественно из группы конденсиро-

ванных. Кроме этого, в них найдены органические кислоты, эфирное масло, тритерпеноиды, простые фенолы, фенолкарбоновые кислоты, катехины, флавонолы, антоцианы [4].

Целью настоящего исследования явилось определение количественного содержания конденсированных дубильных веществ в корневищах лапчатки прямостоячей.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили корневища лапчатки прямостоячей, собранные в фазу цветения на территории Гродненского района и подвергнутые воздушно-теновой сушке. Всего было отобрано 30 образцов сырья из пяти ценопопуляций *P. erecta*.

ГФ XI рекомендует для количественного определения дубильных веществ в лекарственном растительном сырье перманганатометрический метод Левенталья-Нейбауера в модификации Курсанова [1]. Этот метод использовался нами в качестве стандартного, но он, как известно, имеет ряд недостатков: окисляются не только дубильные вещества, но и другие соединения из числа перечисленных выше; коэффициент пересчета на танин не учитывает разную структуру и степень конденсации; нечеткая точка конца титрования. На практике это часто приводит к завышенным результатам.

Из числа фотоколориметрических нами был выбран метод, основанный на деполимеризации олиго- и полимеров лейкоантоцианидинов при нагревании в присутствии катализатора, содержащего ионы железа (III), и образовании окрашенных в малиново-красный цвет растворов за счет окисления в кислой среде полученных мономеров лейкоантоцианов до антоцианов. Метод достаточно специфичен и чувствителен. Конкретные условия проведения анализа применительно к изучаемому сырью были нами немного изменены по сравнению с описанными в литературе [6].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При воспроизведении методики Porter, Hrstich and Chan [6] оптическая плотность растворов превышает 3,0 вследствие очень высокого содержания дубильных веществ в исследуемом сырье. Поэтому нами было предложено, во-первых, изменить соотношение сырья и экстрагента для приготовления извлечения с 1:20 до 1:50 и, во-вторых, уменьшить объем извлечения, отбираемого для анализа, с 1 мл до 0,1 мл. В результате этих изменений оптическая плотность растворов в исследуемых образцах была в диапазоне 0,2-0,5.

Кроме того, нами была изучена динамика развития окраски раствора для определения оптимального времени нагревания. Как видно из данных, представленных на рисунке, практическое прекращение роста оптической плотности растворов наблюдается после 60-минутного выдерживания растворов на кипящей водяной бане. Это время и было принято нами как оптимальное.

Таким образом, количественное определение конденсированных дубильных веществ в корневищах лапчатки прямостоячей проводили по следующей методике:

Аналитическую пробу сырья измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Точную навеску (около 1 г) измельченного сырья помещали в коническую колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 25 мл 70% этилового спирта, колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали при умеренном кипении на водяной бане в течение 30 минут. Извлечение охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через бумажный фильтр, предварительно смоченный 70% спиртом, в мерную колбу вместимостью 50 мл. Твердый остаток вместе с фильтром еще раз экстрагировали 25 мл 70% спирта в аналогичных условиях (кипение растворителя, 30 минут). Извлечение фильтровали в ту же мерную колбу, доводили объем раствора 70%-ным спиртом до метки и перемешивали (раствор А).

В пробирку с притертой пробкой вместимостью 20 мл помещали 0,1 мл

раствора А, прибавляли 6,7 мл реактива, содержащего 475 мл н-бутанола и 25 мл концентрированной соляной кислоты, а также 0,2 мл железного реактива (4,1 мл концентрированной соляной кислоты довести до 25 мл водой и прибавить 0,5 г железоаммонийных квасцов). Пробирку закрывали пробкой, ее содержимое тщательно перемешивали (раствор Б) и нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 минут. После охлаждения измеряли оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 550 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения аналогично приготовленный раствор Б без нагревания. Содержание конденсированных дубильных веществ в пересчете на цианидин рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{D \cdot V_K \cdot 7 \cdot 100}{m \cdot V_{\Pi} \cdot 75 \cdot (100-w)} \quad \%, \text{ где}$$

- $D$  – оптическая плотность раствора;
- $V_K$  – объем колбы, мл;
- 7 – объем раствора Б (0,1 + 6,7 + 0,2 = 7), мл;
- $m$  – масса сырья, г;
- $V_{\Pi}$  – объем пипетки, мл;
- $E_{1\text{см}}^{1\%}(75)$  – удельный показатель поглощения цианидина при длине волны 550 нм;
- $w$  – потеря в массе сырья при высушивании, %.

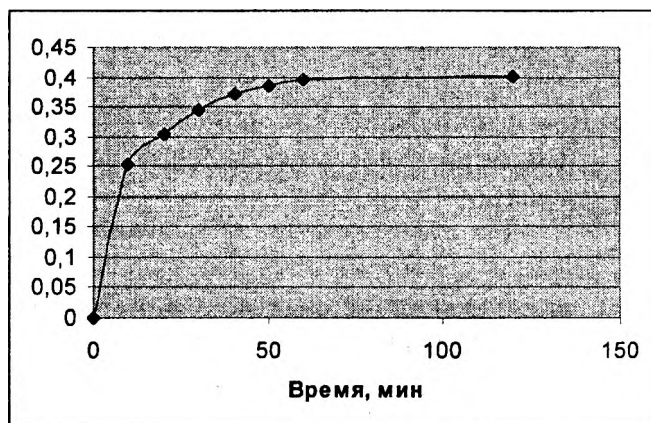


Рис. Зависимость оптической плотности растворов от времени нагревания

Воспроизводимость методики устанавливали на одном из образцов в шести повторностях. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Метрологические характеристики методики фотоколориметрического определения конденсированных дубильных веществ в корневищах лапчатки прямостоячей

№ п/п	Содержание конденсированных дубильных веществ, %	$\bar{X} \pm x$	Показатель точности опыта
1	25,9	$25,8 \pm 0,16$	0,62%
2	25,6		
3	26,0		
4	25,7		
5	25,8		
6	25,6		

Результаты количественного определения содержания (ДВ) в 30 образцах корневищ лапчатки прямостоячей перманганатометрическим и фотоколориметрическим способом приведены в таблице 2.

нопопуляций довольно значительно: от 19,3% до 45,7%, т.е. более, чем в два раза. Содержание конденсированных дубильных веществ ниже и заметно стабильнее — изменяется от 18,4% до 27,6%. Коэффициент корреляции между двумя этими показателями положительный и составляет 0,66, что говорит об их сопряженной изменчивости.

Доля конденсированных дубильных веществ в общей сумме непостоянна и составляет от 0,56 до 0,95, причем достигает своих максимальных значений в ЦП №5 и №2, эколого-ценотические условия в которых являются оптимальными для *P. erecta*. Здесь отмечается резкое увеличение по сравнению с другими ЦП численности особей и проективного покрытия [5]. В ЦП №1 и №4 плотность особей в 5 раз, а в ЦП №3 — в 10 раз ниже при максимальном содержании гидролизуемых ДВ. Этот факт хорошо согласуется с литературными данными, согласно которым простые фенолокислоты (в том числе и галловая) могут выступать в роли аллелопатических агентов, отрицательно воздействуя на соседние растения [2]. Повидимому, именно гидролизуемые ДВ в большей степени, чем конденсированные, ответственны за адаптацию данного вида в экстремальных условиях.

Таблица 2

Содержание ДВ в корневищах лапчатки прямостоячей

№ ЦП *	Сумма ДВ по ГФ XI, % $\bar{X} \pm x$	Конденсированные ДВ по Porter, Hrstich and Chan, % $\bar{X} \pm x$	Доля конденсированных ДВ в сумме	Коэффициент корреляции $r$
1	$39,9 \pm 1,3$	$23,2 \pm 1,1$	0,58	0,66
2	$28,5 \pm 1,7$	$22,9 \pm 2,2$	0,80	
3	$42,1 \pm 4,4$	$27,6 \pm 1,8$	0,66	
4	$45,7 \pm 3,2$	$25,8 \pm 2,2$	0,56	
5	$19,3 \pm 1,6$	$18,4 \pm 1,9$	0,95	

- \* 1 — 5,3 км от г.п. Сопочкин; разнотравно-мшистый влажный луг;  
 2 — 6,1 км от г.п. Сопочкин; бобово-разнотравный мшистый влажный луг;  
 3 — 3,2 км от ст. Богушевка; злаково-разнотравный мшистый сырой луг;  
 4 — 3,2 км от ст. Богушевка; злаково-разнотравный влажный луг;  
 5 — 12,5 км от д. Гожа; ликопоидиелло-вейниковый лапчатковый сырой луг.

Содержание суммы дубильных веществ варьирует в сырье из изученных це-

Максимальное содержание как суммы дубильных веществ, так и проантоциа-

нидинов наблюдалось в ценопопуляциях №3 и №4 при относительно небольшой доле конденсированных ДВ в сумме. В этих же условиях, как было изучено нами ранее, отмечается и высокая урожайность за счет увеличения массы отдельных корневищ при относительном снижении численности особей [5].

Таким образом, для заготовки корневищ лапчатки предпочтительнее субоптимальные условия, а именно злаково-разнотравные влажные и сырые луга с зарослями ивняка и подростом березы при умеренном выпасе скота.

### ВЫВОДЫ

1. Содержание дубильных веществ, определяемых пермангатометрически, в корневищах лапчатки, заготовленных в Гродненском районе, варьирует от 19,3% до 45,7%.
2. Содержание конденсированных дубильных веществ, определяемых фотоколориметрически, изменяется от 18,4% до 27,6%, причем доля их в общей сумме ДВ составляет от 0,56 до 0,95.
3. Максимальное содержание как конденсированных, так и гидролизуемых дубильных веществ наблюдается в субоптимальных условиях.
4. Методика фотоколориметрического определения содержания конденсированных дубильных веществ высокочувствительна и хорошо воспроизводима, поэтому может применяться для сырья лапчатки прямостоячей.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Государственная Фармакопея СССР XI издания.- М.: Медицина, 1987.- вып.1.- с. 286-287.
2. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений. М.: Мир, 1986, т.2., с. 202.
3. Растения для нас. Справочное издание. Под ред. Г.П.Яковлева и К.Ф.Блиновой.- С.-Пб.: Учебная книга, 1996, с.474-481.

4. Растительные ресурсы СССР. Сем. Hydrangeaceae – Haloragaceae. Л.: Наука, 1987, с.63-64.

5. Созинов О.В., Кузьмичева Н.А. Ценопопуляции *Potentilla erecta* (L.) Raeusch. в условиях Неманского геоботанического района // Веснік ГрДУ ім. Я.Купалы, сер. 2, №2, 2002, с. 142-151.

6. Porter L.J., Hrstich L.N., Chan B.G. The conversion of proanthocyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin.- *Phytochemistry*.- 1986, vol.25, p.223-230.

### SUMMARY

In the article the data about the quantitative contents of condensed and hydrolyzed tannins in rhizomes *Potentilla erecta*, prepared in five coenotic populations of Grodno region are submitted.